

11

Partial Translation of Japanese Laid-Open Patent Publication No.  
2002-29953

Date of Laid-Open: January 29, 2002

Application No. 2000-218344

Filing date: July 19, 2000

Applicant: SUNSTAR INC.

Inventor: Sachiyo Sekimoto

Title of the Invention:

Food composition or composition for oral cavity for preventing or  
treating periodontal diseases

Claims: (Partial translation)

1. A food composition or a composition for oral cavity for preventing  
or treating periodontal diseases comprising a grape seed extract,  
vitamin C, and vitamin E, wherein the composition is suitable for a  
smoker or a passive smoker.

Column 4, lines 8 to 17

The grape seed extract employed in the present invention is not  
particularly limited as long as the extract provides the expected effects  
of the present invention. For example, the grape seed extract is an  
extract containing proanthocyanidins and anthocyanoids, wherein the  
extract can be obtained from the seed of *Vitis vinifera* with a method  
disclosed in any of Japanese Patent Publication No.6-31208, Japanese  
Laid-Open Patent Publication Nos.63-162685, 3-200781, 2-48593, and  
3-9909, and the like.

THIS PAGE. BLANK (USPTO)

Column 21, lines 17 to 21

The composition of the present invention can suppress destruction of periodontal tissue by inhibiting the production of matrix metalloprotease in the cell, and can regenerate collagen in destructed periodontal tissue by promoting collagen synthesis in the cell. Thus, the composition has an excellent periodontal disease preventing activity or an excellent periodontal disease treating activity.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

7

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2002-29953

(P2002-29953A)

(43) 公開日 平成14年1月29日 (2002.1.29)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テームト <sup>*</sup> (参考)
A 6 1 K 7/26		A 6 1 K 7/26	4 B 0 1 8
A 2 3 L 1/30		A 2 3 L 1/30	B 4 C 0 8 3
1/302		1/302	4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/355		A 6 1 K 31/355	4 C 0 8 8
31/375		31/375	

審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 12 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2000-218344(P2000-218344)

(22) 出願日 平成12年7月19日 (2000.7.19)

(71) 出願人 000106324

サンスター株式会社

大阪府高槻市朝日町3番1号

(72) 発明者 関元 幸代

大阪市阿倍野区阿倍野筋5丁目8-27-405

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 歯周病の予防または治療用の食品組成物、口腔用組成物

(57) 【要約】

【課題】 喫煙者乃至受動喫煙者が摂取又は使用した場合、歯周病予防又は治療用の食品組成物、口腔用組成物を提供する。

【解決手段】 ブドウ種子エキス、ビタミンCおよびビタミンEを配合することにより、細胞のマトリックスメタロプロテアーゼ産生阻害、細胞のコラーゲン合成を促進することで、破壊された歯周組織のコラーゲンを再生し、優れた歯周病予防又は治療の作用を有している。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 ブドウ種子エキス、ビタミンC及びビタミンEを含有する歯周病予防または治療用の喫煙者乃至受動喫煙者向け食品組成物或は口腔用組成物。

【請求項2】 ブドウ種子エキスとビタミン総量（ビタミンCとビタミンEのそれぞれの配合量の合計）との配合比が、1:1～1:100であることを特徴とする請求項1に記載の組成物。

【請求項3】 ビタミンCとビタミンEの配合比が、1:100～100:1であることを特徴とする請求項1～2の何れか1項に記載の組成物。

【請求項4】 細胞のコラーゲン合成促進効果及び細胞のマトリックスメタロプロテアーゼ阻害効果を有する請求項1～3の何れか1項に記載の組成物。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、歯周病予防または治療用の喫煙者乃至受動喫煙者向け食品組成物或は口腔用組成物に関する。

【0002】

【従来の技術】 マトリックスメタロプロテアーゼ（和名マトリックス金属タンパク質分解酵素<sup>1</sup>、以降MMPsと略す）は、活性部位に亜鉛（II）イオンを保有することを特徴とする、細胞外マトリックス分解酵素の総称である。この細胞外マトリックスの代謝は、MMPsと、MMPsに特異的な組織由来メタロプロテアーゼインヒビター（TIMP）とのバランスにより、主に調節されている。MMPsの発現異常にもとづく細胞外マトリックス成分の構造異常や、合成・分解の代謝バランスの崩れは、歯周炎等の歯周病と関連していることが知られている。

【0003】MMPsとしては、コラゲナーゼ（MMP-1および8）、ストロメライシン（MMP-3）、ゼラチナーゼ（MMP-2および9）など10種類以上の酵素分子種が知られ（吉原、新名：炎症と免疫、2、177-185、1994）、これらは多くの種の細胞によって産生される。

【0004】歯肉炎、歯周炎等の歯周病においても、MMPsは、歯周病の発症および進行に深く関与しているものと考えられており、歯肉炎・歯周炎等の歯周病における組織破壊に関与するMMPsは、主としてヒト歯肉上皮細胞や歯肉線維芽細胞、歯根膜細胞の産生するコラゲナーゼやゼラチナーゼであることが示唆されている。すなわち歯肉炎、歯周炎等の歯周病は、特定の歯周病原菌（*P. gingivalis*菌）が歯周組織に感染することによって起こり、病原菌による外来刺激を受けた歯周組織中の上皮細胞や歯肉線維芽細胞、歯根膜細胞からMMPsが産生された結果、歯と歯周組織を結合させている歯根膜構造が細胞由来MMPsに破壊されることによって主として発症し、進行すると考えられている

（M. Kylmaniemi et al: J. Dent Res., 75:919-926, 1996）。

また、歯周組織由来MMPsの活性は、個人の喫煙習慣や糖尿病罹患など生体の免疫応答性を変えるような要因によっても容易に増大し、歯肉炎、歯周炎等の歯周病の発症や進行度を増大させることが示唆されている。

【0005】従って、細胞のMMPs産生を阻害することは、歯周炎、歯肉炎等の歯周病の治療または進行の予防に有効であると考えられる。これまでに、天然物質由来のMMPs産生阻害剤としては、柑橘類由来のフラボノイドが報告されている（特開2000-80035号公報）。合成物質のMMPs産生阻害剤としては、グルココルチコイド類の1種であるデキサメタゾンが報告されている（M. Kylmaniemi: J. Dent. Res., 75:919-926, 1996）。しかし、合成物質であるグルココルチコイド類の副作用を考慮すると、歯周炎等の歯周病を治療もしくは予防する目的で長期間摂取することは好ましくない。

【0006】一方、細胞外マトリックスの一種であるコラーゲンは、皮膚、腱、軟骨、結合組織の主成分を構成する蛋白質であり、歯肉組織中においても、構造維持に重要な役割を担っている。したがって、歯周組織細胞のコラーゲン合成を促進し、歯周病で破壊されたコラーゲン組織を再生することは、歯周病の治療または進行の予防に有効であると考えられる。

【0007】上記のことより、細胞のMMPs産生阻害およびコラーゲン合成促進の2つの作用を有する組成物の開発が望まれる。さらには、服用・摂取による副作用の少ない天然物由来である細胞のMMPs産生阻害およびコラーゲン合成促進剤の開発も望まれる。しかも通常考えられる適切な摂取量によって、十分な効果が発揮される必要がある。

【0008】ブドウ種子エキスは、血管保護作用（B. Vennat et al: Chem. Pharm. Bull., 36:828, 1988）や、毛細血管抵抗性改善効果（J. Y. Dartenuc et al: Bordeaux Medical, 92, 1985）、視力改善作用（Ch. Corbe et al: Ophthalmol, 11:453, 1988）等の薬理作用が報告されている。また、フリーラジカルや活性酸素を除去作用（T. Ariga et al: Agric Biol. Chem., 54:2499, 1990）、低密度リボタンパク質の酸化防止作用（P. L. Tessedre et al: J. Sci. Food Agric., 70:55, 1996）や、一部の菌由来コラゲナーゼに対して阻害作用（L. Robert et al: Path. Biol, 38:608, 1990）を示すことが報告されている。現在、米国では、歯肉の抗炎症、治療の補助を

目的として、ブドウ種子エキスと親油性抗酸化剤である

ユビデカレノン等を配合した、商品名Body Language (Oxyfresh社、米国) が販売されている。また、ブドウ種子エキスを含む天然ポリフェノールと、ビタミンC、ビタミンE、ビタミンAまたはベータカロチンのいずれかと組み合わせを有効成分とする歯周病予防薬および治療用食品組成物(特開平11-302142号公報)が報告されている。

【0009】細胞のコラーゲン合成を促進する天然物質としては、ビタミンCが知られている。コラーゲン合成促進効果を有する植物エキス類としては、赤ワインポリフェノール濃縮エキ스가フリーラジカル阻害効果による、コラーゲン合成促進を有することが報告されている(RD418047)。また、ビタミンCと植物エキスの組み合わせでは、ビタミンCと松樹皮エキス由来のプロアントシアニジンとの組み合わせによるフリーラジカル消去での、コラーゲン合成促進効果が報告されている(米国特許5470874号)。

【0010】しかし、ブドウ種子エキス、ビタミンC及び並びにビタミンEを併用することにより、ブドウ種子エキスによるMMPsの産生阻害に対する活性が増強されるだけでなく、ビタミンCによる細胞のコラーゲン合成が相乗的に促進されることは、新たな知見である。

【0011】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、歯周病の予防又は治療効果に優れ、特に喫煙が増悪要因となる歯周病に対して予防又は治療効果に優れた、安全性の高い組成物、特に食品組成物、口腔用組成物を提供することにある。

【0012】

【課題を解決するための手段】本発明者は、鋭意研究した結果、ブドウ種子エキス、ビタミンC及びビタミンEと併用することにより、細胞のコラーゲン合成を促進する効果が増強されるだけでなく、細胞のMMPs産生を阻害する効果が増強されることを見出し、これら二つの作用を同時に有することで、優れた歯周病予防乃至治療効果が得られることを見出して、本発明を完成した。

【0013】さらに、ニコチン環境下で、低下したコラーゲン産生能が、ブドウ種子エキス、ビタミンC、ビタミンEと併用することにより相乗的に回復することを見出した。ここで、ニコチンは、タバコの煙中の主な刺激物質であり、ニコチンが歯周組織細胞に対して、コラーゲン合成の抑制だけでなく、コラーゲン産生の増大等の悪影響を及ぼすことがin vitro試験により報告されている(D. A. Tipton et al: J. Periodontol., 66: 1056-1064, 1995)。

【0014】従って、喫煙者は、喫煙が誘引となって歯周病を発症し易く、進行も早い。また、受動喫煙者であっても、ニコチン環境下であれば、喫煙者と同様に、歯周病を発症し易く、進行が早いという傾向にある。本発

明では、ブドウ種子エキス、ビタミンC及びビタミンEを含有する組成物により、口腔内のコラーゲン合成を高め、かつ、マトリックスメタロプロテアーゼ濃度の増大を効果的に抑制する。これら、2つの効果が、特に喫煙者および受動喫煙者において、歯周病の予防的治療的效果を示すことは、新たな知見である。

【0015】

【発明の実施の形態】本発明に用いるブドウ種子エキスは、本発明の所期の効果を得られるものであれば、特に限定せずに使用することができる。例えば、ヨーロッパブドウ(Vitis vinifera)の種子を原料とし、これまでに特公平06-31208号公報、特開昭63-162685号公報、特開平03-200781号公報、特開平02-48593号公報、特開平03-9909号公報等に記載されている何れの方法によっても得ることができるプロアントシアニジンおよびアントシアノイド類を含んだエキスである。

【0016】ブドウ種子エキスを抽出する抽出溶媒としては、例えば、水；メタノール、エタノール、プロパノール、ブタノール等のアルコール類；酢酸エチルエステル等の低級アルキルエステル；ベンゼン、ヘキサン等の炭化水素；その他エチルエーテル、アセトン、酢酸等の公知の溶媒を挙げることができる。これら溶媒は、単独で用いてもよく、二種以上を組み合わせで使用することもでき、通常用いられているような公知の抽出方法を採用することができる。

【0017】本発明のブドウ種子エキスは、抽出液をそのまま用いてもよく、減圧乾燥、凍結乾燥等の通常的手段により濃縮、あるいは乾固して用いてもよい。また、抽出液を向流分配法、液体クロマトグラフィー等を用いて精製して使用することもできる。本発明に用いるブドウ種子エキスは、キッコーマン株式会社(商品名KPA、Gravinol)、インディナ社(商品名；ロイコセレクト)から商業的に入手できる。

【0018】本発明に用いるブドウ種子エキスの配合量は、所望の効果が得られるものであれば特に限定されるものではないが、本発明組成物全量に対してエキス乾燥重量として、0.0001~20重量%、特に0.01~10重量%配合することが好ましい。

【0019】本発明の口腔剤組成物としては、歯磨、洗口液、口腔用ペースト、口腔用ゲルなどの形態があげられ、それらの配合量は、エキス乾燥重量として、0.001~5重量%、好ましくは0.01~2重量%配合である。0.0001重量%に満たなければ顕著な効果があげられず、5重量%を超えると組成物の味などに不都合を生じる。

【0020】本発明の食品組成物として、トローチ、タブレット、カプセル、キャンディー、チューインガム等の同形の形態乃至剤型である場合は、ブドウ種子エキスの配合量は抽出物乾燥重量として、0.01~20重量

%である。また、ジュース等の液体の形態乃至剤型とする場合には、ブドウ種子エキスの抽出物乾燥重量として0.0001~0.5重量%配合するのが好ましい。

0.0001重量%に満たなければ顕著な効果があげられず、20重量%を超えると組成物の味などに不都合を生じる。

【0021】本発明の組成物に用いるビタミンCは、アスコルビン酸及びその塩またはその誘導体であり、アスコルビン酸の塩としては、L-アスコルビン酸ナトリウム、L-アスコルビン酸カルシウム等が例示できる。アスコルビン酸の誘導体としては、L-アスコルビン酸ステアリン酸エステル、L-アスコルビン酸パルミチン酸エステル等が例示できる。ビタミンCは、天然由来でも化学合成によって得られたものでもよく、ビタミンCを含有するアセロラ、ローズヒップなどの植物エキスを配合しても良い。

【0022】又、本発明組成物に用いるビタミンEは、トコフェロールの同属体およびその誘導体であり、同属体としては、 $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -および $\delta$ -トコフェロール、 $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -および $\delta$ -トコトリエンール等が例示でき、各トコフェロール同属体には、d体、l体、dl体の光学異性体が挙げられる。誘導体としては、酢酸トコフェロールや、ニコチン酸トコフェロール等が例示できる。本発明組成物において、ビタミンEは、天然由来でも化学合成によって得られたものでもよく、ビタミンEを含有する大豆、小麦などの胚芽油を配合しても良い。上記のビタミンCおよびEは、塩類や誘導体、天然物および化学合成品、胚芽油を一種または二種以上を組み合わせる配合しても良い。

【0023】本発明組成物における、ビタミンC、及びビタミンEの配合量は、本発明組成物全量に対して、本発明ビタミン類全量として、0.01~50重量%、特に0.1~40重量%配合することが好ましい。

【0024】本発明組成物において、ブドウ種子エキスとビタミンCおよびビタミンEの配合比は、本発明の目的を達成できる限り特に限定されるものではないが、ブドウ種子エキスとビタミン総量（ビタミンCおよびビタミンEの配合量の合計）の配合比は1:1~1:100、好ましくは1:10~1:50とすると、ブドウ種子エキスの作用効果が最も高められ、従って、歯周病に対する予防又は治療効果が最も優れることとなり、特に好ましい。また、ビタミンCとビタミンEの配合比は、本発明の目的を達成できる限り特に限定されるものではないが、100:1~100:1、好ましくは、1:10~50:1とすると、ブドウ種子エキスの作用効果が最も高められ、特に好ましい。

【0025】本発明の歯周病の予防または治療用の食品組成物或は口腔用組成物は、歯周炎、歯肉炎、歯根膜炎、智歯周囲炎、インプラント周囲炎等の歯周病の予防、治療に有効である。

【0026】本発明の組成物にあっては、それぞれの形態に応じて、上記した成分以外に、例えば、pH調整剤としては、乳酸、バントテン酸、リン酸塩、リンゴ酸、クエン酸など。植物エキスとしては、油性性甘草エキス、桑白皮エキス、茶エキス、ブルーベリーエキス、ローズマリーエキス、シラカバエキス、柿エキス、コンフリーエキス等。賦形剤としては、炭酸カルシウム、無水ケイ酸、炭酸マグネシウム、ショ糖、乳糖、デンプン、ブドウ糖、結晶性セルロース、マンニット、ソルビット、キシリトール、エリスリトール、バラチニット、バラチノース、マルチトール、トレハロース、ラクチトール、還元澱粉糖、還元イソマルトオリゴ糖、カップリングシュガー、ガムベース、アラビアガム、ゼラチン、セチルメチルセルロース、軽質無水珪酸、アルミン酸マグネシウム、メタ珪酸アルミン酸カルシウム、炭酸水素ナトリウム、リン酸カルシウムなど。可溶化剤として、ラウリル硫酸ナトリウム、ジオクチルスルホコハク酸ナトリウム、アルコール、エステル類、ポリエチレングリコール誘導体、ソルビタンの脂肪酸エステル類、硫酸化脂肪アルコール類等。

【0027】粘結剤として、セルロース誘導体、カラギーナン、アルギン酸ナトリウム、ポリアクリル酸ナトリウム、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、キサンタンガム等。滑沢剤としては、ステアリン酸マグネシウム、タルク、硬化油等。懸濁剤又は湿潤剤としては、ココナッツ油、オリーブ油、ゴマ油、落花生油、バセリ油、バセリ種子オイル、乳酸カルシウム、紅花油、大豆リン脂質、グリセリン、ソルビトール、プロピレングリコール、エチレングリコール等。

【0028】被膜形成物質としては、例えば、酢酸フタル酸セルロース等の炭水化物誘導体、アクリル酸メチル、メタアクリル酸メチル等のアクリル酸系共重合体、メタアクリル酸系共重合体等、矯味剤又は矯臭剤として、サッカリンナトリウム、アスパルテム、ステビアエキス、グラニュー糖、粉糖、水飴等の甘味料、オレンジ油、水溶性カンゾウエキス、メントール、ユーカリ油、香料、着色料、保存剤などの成分が適宜配合できる。

【0029】

【実施例】以下に試験例および実施例により本発明をさらに具体的に説明するが、本発明は下記の試験例および実施例に制限されるものではない。また、特に断らない限り「%」は「重量%」を示す。

【0030】上記したように、タバコの煙中の主な刺激物質であるニコチンは、歯周組織細胞に対して細胞のコラーゲン合成抑制や、コラーゲン産生の増大等の悪影響を及ぼすことがin vitro試験および動物実験により報告されている。そこで、ニコチンの刺激により抑制された、ヒト歯根膜繊維芽細胞のコラーゲン合成に対するブドウ種子エキスと、ビタミンCおよびビタミン

Eとの併用によるコラーゲン合成促進効果を検討した。さらに、ニコチンの刺激により増大したヒト歯肉線維芽細胞及びヒト歯肉上皮細胞のコラーゲン産生に対する、ブドウ種子エキスと、ビタミンCおよびビタミンEとの併用による産生阻害効果を検討した。

【0031】試験例1：ニコチン刺激を行った細胞のコラーゲン合成に対する促進効果の測定

ニコチンの刺激により低下した、ヒト歯根膜線維芽細胞のコラーゲン合成量に対する、ブドウ種子エキス、ビタミンC、ビタミンEのコラーゲン合成促進効果を検討した。

【0032】(1) 材料

1-1. 被験物質：ブドウ種子エキス、ビタミンC（L-アスコルビン酸）およびビタミンE（天然ビタミンE：「天然ビタミンE」とは、天然由来のd体 $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -および $\delta$ -トコフェロール等の混合物）の同時添加。

1-2. 比較物質：ブドウ種子エキス、ビタミンC（L-アスコルビン酸）およびビタミンD（天然ビタミンD）単独または2種を組み合わせる添加。ブドウ種子エキス、ビタミンC、ビタミンEの使用量は各々10 $\mu$ g/mlであった。

\*【0033】(2) 方法

2-1. コラーゲンの合成促進効果の測定

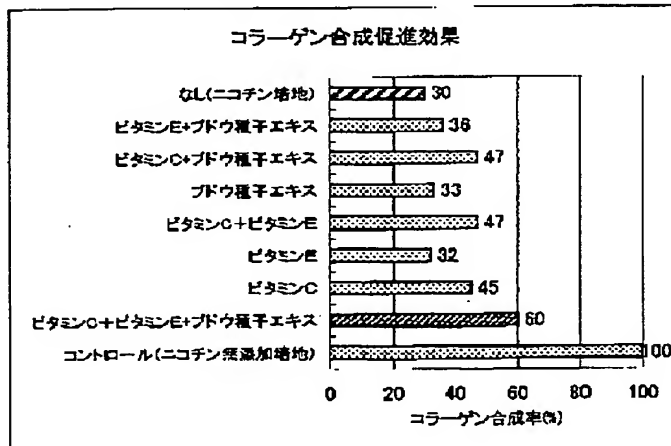
25cm<sup>2</sup>の組織培養用フラスコに、ヒト歯根膜線維芽細胞（以降「PDGF」と略す）を30,000個となるように播種し、24時間培養後、75 $\mu$ g/ml  $\beta$ -aminopropionitrile、0.05%ニコチン、および10 $\mu$ g/ml各種被験物質を含むダルベッコ変法MEM培地（DMEM）と交換し、6日間培養した。培養後、0.5M酢酸溶液で細胞を回収し、超音波処理をした。培地と超音波処理細胞を集め、凍結乾燥後、0.5M酢酸溶液1.5mlで再溶解した。その後、Tris-HCl緩衝液で透析後、蛋白総量を定量した。コラーゲン量は、ELISA法により定量した。コラーゲン抗体でコートしたmicrotiter plateに、既知濃度のtype Iコラーゲン溶液を用いて検量線を作成し、上記の超音波処理細胞と培地中のコラーゲン量を検量線より、算出した。コントロール（ニコチン無添加培地で培養）細胞合成のコラーゲン量を100%とし、ニコチン存在下での各種被験物質添加時のコラーゲン量の相対的割合を求めた。結果を表1に示す。

【0034】

\*【表1】

図1. コラーゲンの合成促進効果

被験物質	コラーゲン合成率(%)
対照 コントロール(ニコチン無添加培地)	100
試験物質 ビタミンC+ビタミンE+ブドウ種子エキス	60
比較物質 ビタミンC	45
ビタミンE	32
ビタミンC+ビタミンE	47
ブドウ種子エキス	33
ビタミンC+ブドウ種子エキス	47
ビタミンE+ブドウ種子エキス	36
なし(ニコチン培地)	30



【0035】(3) 結果

ニコチンの添加により、被験細胞からのコラーゲン合成の減少が示されるが、ビタミンC単独添加でニコチン刺激に対する阻害が示され、コラーゲン合成の回復が示された。ビタミンE、ブドウ種子エキスでは、ニコチン刺

激に対する阻害効果は、若干しか示されないが、本発明で用いるブドウ種子エキスとビタミンC、ビタミンEを併用することにより、阻害効果が増強され、優れた合成促進効果を示すことが明らかとなった。

【0036】試験例2：ニコチン刺激を行った細胞のコ

ラーゲン合成に対する促進効果の測定

(ブドウ種子エキス含有量とコラーゲン合成促進効果)

ブドウ種子エキス量を変化させた場合におけるコラーゲン合成量の定量を行い、ブドウ種子エキスとビタミン量の望ましい比率を検討した。

\*

【0037】試験1と同様に実施した。但し、 $10\mu\text{g}/\text{ml}$  ビタミンC、および $10\mu\text{g}/\text{ml}$  ビタミンE存在下で、ブドウ種子エキスの濃度を変化させた。

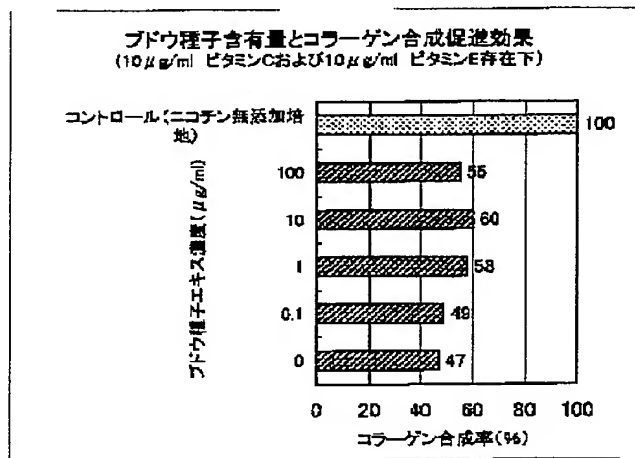
【0038】

【表2】

図2. コラーゲンの合成促進効果2  
(ブドウ種子含有量とコラーゲン合成促進効果)

試験物質	ブドウ種子エキス濃度 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	コラーゲン合成率 (%)
	0	47
	0.1	49
	1	58
	10	60
	100	55
対照	コントロール(ニコチン無添加培地)	100

10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  ビタミンCおよび10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  ビタミンE存在下



【0039】ニコチンの添加により、被検細胞からのコラーゲン合成の減少が示されるが、ブドウ種子エキスをビタミン総量に対して、5:1~1:200の割合で培地に添加した場合、コラーゲン合成が回復し、コラーゲン合成促進効果が、増強されることが示された。

【0040】試験例3:ニコチン刺激を行った細胞のコラーゲン合成に対する促進効果の測定

(ビタミン比とコラーゲン合成促進効果)ブドウ種子エ

キス量を変化させた場合におけるコラーゲン合成量の定量を行い、ブドウ種子エキスとビタミン量の望ましい比率を検討した。

【0041】試験1と同様に実施した。但し、 $10\mu\text{g}/\text{ml}$  ビタミンE、および $10\mu\text{g}/\text{ml}$  ブドウ種子エキス存在下で、ビタミンCの濃度を変化させた。

【0042】

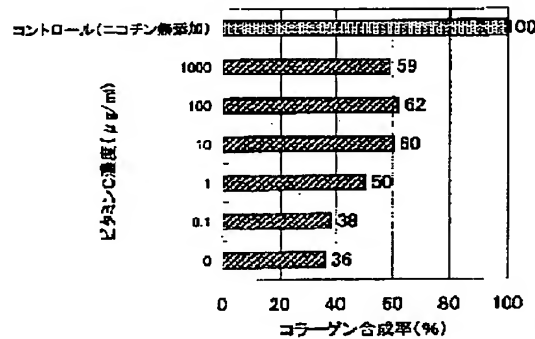
【表3】

図3. コラーゲンの合成促進効果3  
(ビタミンの比率とコラーゲン合成促進効果)

試験物質	ビタミンC濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	コラーゲン合成率 (%)
	0	38
	0.1	38
	1	50
	10	60
	100	62
	1000	59
対照	コントロール(ニコチン無添加)	100

10  $\mu\text{g/ml}$  ビタミンEおよび10  $\mu\text{g/ml}$  ブドウ種子エキス存在下

ビタミン比率とコラーゲン合成促進効果  
(10  $\mu\text{g/ml}$  ビタミンEおよび10  $\mu\text{g/ml}$  ブドウ種子エキス存在下)



【0043】ニコチンの添加により、被検細胞からのコラーゲン合成の減少が示されるが、ビタミンCとビタミンEを100:1~1:100の割合で培地に添加した場合、コラーゲン合成が回復し、コラーゲン合成促進効果が、増強されることが示された。

【0044】試験例4:マトリックスメタロプロテアーゼ産生に対する阻害活性の測定

ヒト歯肉線維芽細胞及びヒト歯肉上皮細胞を用いて、歯周組織の破壊に関与するMMPs (コラゲナーゼ) 産生に対する、ブドウ種子エキスと、ビタミンC又はビタミンEの産生抑制効果を検討した。

【0045】(1) 材料

試験例1と同じものを用いた。但し、ブドウ種子エキス、シリマリンエキスの使用量は5  $\mu\text{g/ml}$ であった。また、ビタミンCの使用量は100  $\mu\text{g/ml}$ 、ビタミンEの使用量は10  $\mu\text{g/ml}$ 、ビタミンCとビタミンEの併用系ではビタミンCの使用量は100  $\mu\text{g/ml}$ 、ビタミンEの使用量は10  $\mu\text{g/ml}$ であった。

【0046】(2) 方法

96穴の組織培養用プレートに、ヒト歯肉線維芽細胞

(以降「HGF」と略す) 及びヒト歯肉上皮細胞 (以降「HGK」と略す) をそれぞれ10,000個/ $\text{well}$  1播種し、37℃で1日インキュベートした。その後、被験物質、0.05%ニコチン及び1%牛胎児血清を含むダルベッコ変法MEM培地 (HGF) または、上皮用培地 (HGK) にそれぞれ交換して2日間インキュベートした。さらに、培地を、被験物質を含まない、1%牛胎児血清のみを含むDMEMまたは無血清上皮用培地に換えて2日間インキュベートし、培地中に遊離してくるコラゲナーゼの量を測定した。コラゲナーゼ量は、フルオレッseinイソチオシアネートで標識されたI型コラーゲン (ヤガイ社製) を基質とした永井らの方法 (Japanese Journal of Inflammation, 4巻, 123頁, 1984年参照) に準じて、コラゲナーゼ活性を測定して行った。また、コントロール (ニコチンのみ添加培地) の培地上清のコラゲナーゼ活性を100%とし、各種被験物質添加時のコラゲナーゼ活性の相対的割合を求めた。

【0047】

【表4】

## 細胞のコラゲナーゼ産生の阻害効果

被検物質			ニコチン刺激細胞の コラゲナーゼ産生の阻害率(%)	
	試料	同時添加物	HGF	HGK
実施例 1	ブドウ種子エキス	ビタミンC、ビタミンE	30	28
比較例	1	ビタミンC なし	-	-
	2	ビタミンE なし	-	-
	3	ビタミンC ビタミンE	-	-
	4	ブドウ種子エキス なし	5	6
	5	ブドウ種子エキス ビタミンC	10	12
	6	ブドウ種子エキス ビタミンE	12	10
	7	シリマリンエキス なし	2	3
	8	シリマリンエキス ビタミンC	4	5
	9	シリマリンエキス ビタミンE	3	4
	10	シリマリンエキス ビタミンC、ビタミンE	4	6

HGF:ヒト歯肉線維芽細胞  
HGK:ヒト歯肉上皮細胞

## 【0048】(3) 結果

ブドウ種子エキスは、ビタミンCおよびビタミンEとの併用により、細胞のMMPs産生に対する阻害活性を効果的に高めることが確認された。比較例1～3に示されるように、ビタミンCおよびビタミンEは単独または併用で、阻害効果は示されない。また、比較例4～6による示されるように、ブドウ種子エキスとビタミンCまたはビタミンEと併用時における阻害率は、10および12%である。これに対して、実施例1に示されるように、本発明のブドウ種子エキスとビタミンCおよびビタミンEとの併用による増加割合は、28および30%であり、本発明の組合せによる併用効果が優れていること\*

\*がわかる。また、比較例7～10に示されるように、シリマリンエキスでは、ビタミンCおよびビタミンEとの併用による効果は、得られなかった。

【0049】さらに、特に説明する以外、常法により、以下に示す口腔剤組成物及び飲食品組成物を製造した。実施例2～13においても、それぞれコラーゲン合成促進効果およびMMPs産生阻害効果が認められた。

【0050】実施例2 チューインガム  
ブドウ種子エキス、L-アスコルビン酸、天然ビタミンE (d体 $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -、および $\delta$ -トコフェロール混合物、以下「天然ビタミンE」と略す)とを配合したチューインガムを、次の処方で作成した。

成分	分量 (%)
ブドウ種子エキス	0.1
天然ビタミンE	0.2
L-アスコルビン酸	2.0
ガムベース	残部
エリスリトール	10.0
キシリトール	38.0
マルチトール	17.0
香料	2.0
合計	100.0

【0051】実施例3 粒カプセル糖衣錠 ブドウ種子エキス、L-アスコルビン酸、天然ビタミンEとを配合したカプセル部160重量部を、L-アスコルビン酸を\*

40※配合した糖衣部110重量部で糖衣した口中清涼剤を作成した。

成分	分量 (%)
L-アスコルビン酸	10.0
天然ビタミンE	0.2
ブドウ種子エキス	0.5
紅花油	26.5
ゼラチン	36.0
ソルビトール	残部

合計	100.0
糖衣部	
成分	分量(%)
L-アスコルビン酸	5.0
油溶性甘草エキス	0.3
アスパルテーム	0.1
アラビアガム	0.5
ゼラチン	0.2
香料	0.4
カルバナワックス	0.1
シェラック	0.3
パラチニット	残部
合計	100.0

## 【0052】実施例4 タブレット

ブドウ種子エキス、L-アスコルビン酸、天然ビタミン※

\* Eとを配合したタブレット(口中清涼剤)を、次の処方で作成した。

成分	分量(%)
L-アスコルビン酸	30.0
粉末ビタミンE	10.0
(天然ビタミンE 20%含有)	
ブドウ種子エキス	1.0
ポリデキストロース	7.0
シュガーエステル	2.0
香料	1.0
アスパルテーム	0.1
キシリトール	15.0
パラチノース	残部
合計	100.0

## 【0053】実施例5 口中清涼錠

ブドウ種子エキス、L-アスコルビン酸、天然ビタミン※

※ Eとを配合した錠剤部分200重量部を、糖衣部130重量部で糖衣した口中清涼剤を作成した。

錠剤部分	
成分	分量(%)
L-アスコルビン酸	20.0
天然ビタミンE	1.0
ブドウ種子エキス	0.50
シュガーエステル	1.00
グアーガム	0.20
アスパルテーム	0.01
香料	1.00
パラチノース	残部
合計	100.0
糖衣部	
成分	分量(%)
リン酸3カルシウム	1.00
アスパルテーム	0.01
アラビアガム	0.50
香料	0.40
カルバナワックス	0.10
シェラック	0.20
マルチトール	残部
合計	100.0

## 【0054】実施例6 キャンディ

※Eとを配合したキャンディを、次の処方で作成した。

ブドウ種子エキス、L-アスコルビン酸、天然ビタミン\*

成分	分量 (%)
L-アスコルビン酸	5.0
天然ビタミンE	0.5
ブドウ種子エキス	0.1
キシリトール	8.0
マルチトール	10.0
アスパルテーム	0.1
香料	0.2
パラチニット	残部
合計	100.0

## 【0055】実施例7 ゼリー飲料

※Eを配合したゼリー飲料を、次の処方で作成した。

ブドウ種子エキス、L-アスコルビン酸、天然ビタミン※

成分	分量 (%)
ブドウ種子エキス	0.05
L-アスコルビン酸	1.0
天然ビタミンE	0.1
1% ジェランガム	10.0
エリスリトール	15.0
ステビア	0.1
乳酸カルシウム	0.5
香料	0.2
50% クエン酸溶液 pH3.7 に調整	
脱イオン水	残部
合計	100.0

## 【0056】実施例8 飲料

★Eを配合した飲料を、次の処方で作成した。

ブドウ種子エキス、L-アスコルビン酸、天然ビタミン★

成分	分量 (%)
ブドウ種子エキス	0.04
L-アスコルビン酸	0.65
L-アスコルビン酸ナトリウム	0.3
乳化ビタミンE	1.8
(天然ビタミンE 5%含有)	
エリスリトール	2.0
スクラロース	0.008
香料	0.15
色素	0.01
脱イオン水	残部
合計	100.0

## 【0057】

## 実施例9 練歯磨き

成分	分量 (%)
第2リン酸カルシウム	30.0
グリセリン	10.0
ソルビトール	20.0
カルボキシメチルセルロースナトリウム	1.0
ラウリル硫酸ナトリウム	1.5
カラギーナン	0.5
サッカリンナトリウム	0.1

香料	1.0
安息香酸ナトリウム	0.3
ブドウ種子エキス	0.01
L-アスコルビン酸	0.2
酢酸d,l- $\alpha$ -トコフェロール	0.02
水	残部
合計	100.0

【0058】

## 実施例10 洗口液

成分	分量(%)
エタノール	10.00
グリセリン	5.00
クエン酸	0.01
クエン酸ナトリウム	0.10
ポリオキシエチレン硬化ひまし油	0.50
ハラオキシ安息香酸メチル	0.10
香料	0.20
ブドウ種子エキス	0.01
L-アスコルビン酸	0.30
酢酸d,l- $\alpha$ -トコフェロール	0.02
水	残部
合計	100.0

【0059】

## 実施例11 トローチ

成分	分量(%)
マルチトール	21.0
アラビアガム	1.5
ショ糖脂肪酸エステル	2.50
粉末香料	1.00
クエン酸	4.00
ブドウ種子エキス	0.40
L-アスコルビン酸	15.00
L-アスコルビン酸ナトリウム	5.00
酢酸d,l- $\alpha$ -トコフェロール	1.00
キシリトール	残部
合計	100.0

【0060】

## 実施例12 口腔用バスタ

成分	分量(%)
流動パラフィン	13.00
セタノール	10.00
グリセリン	25.00
ソルビタンモノパルミテート	0.60
ポリオキシエチレン	5.00
ソルビタンモノステアレート	
ラウリル硫酸ナトリウム	0.10
塩化ベンゼトニウム	0.10
サリチル酸メチル	0.10
サッカリン	0.20
香料	0.25

21

22

ブドウ種子エキス	0.01
酢酸dl- $\alpha$ -トコフェロール	0.01
L-アスコルビン酸	0.20
水	残部
合計	100.0

【0061】

実施例13 口腔用ゲル

成分	分量(%)
カルボキシメチルセルロース	0.20
グリセリン	40.00
ブドウ種子エキス	0.08
酢酸dl- $\alpha$ -トコフェロール	0.02
L-アスコルビン酸	1.00
水	残部
合計	100.0

【0062】

【発明の効果】本発明の組成物は、細胞のマトリックスメタロプロテアーゼ産生阻害により歯周組織の破壊を抑制し、かつ細胞のコラーゲン合成を促進することで、破壊された歯周組織のコラーゲンを再生し、優れた歯周病予防又は治療の作用を有している。また、本発明組成物では、合成系のマトリックスメタロプロテアーゼ産生阻\*

\* 害剤と比較し、服用・摂取による副作用が少ないブドウ種子エキス、ビタミンCおよびビタミンEを用いているため、安全性が高く、長期間の使用が可能であり、喫煙者乃至受動喫煙者が摂取又は使用した場合、歯周病予防又は治療用の食品組成物、口腔用組成物として有用である。

フロントページの続き

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	ターム(参考)
A 6 1 K 35/78		A 6 1 K 35/78	C
A 6 1 P 1/02		A 6 1 P 1/02	
43/00	1 1 1	43/00	1 1 1

F ターム(参考) 4B018 MD25 MD26 MD52 ME09  
 4C083 AA111 AA112 AB292 AC102  
 AC122 AC132 AC302 AC432  
 AC482 AC782 AC862 AD272  
 AJ0352 AJ0641 AJ0642 AJ0661  
 AD662 CC41 CC33  
 4C086 AA01 BA09 BA18 MA03 MA17  
 MA28 MA35 MA52 MA63 NA14  
 ZA67  
 4C088 AB56 AC04 BA08 MA17 MA28  
 MA35 MA52 MA63 NA14 ZA67  
 ZE21 ZC20